

РЕЦЕНЗІЯ

професора закладу вищої освіти кафедри фармакології та клінічної фармації Національного фармацевтичного університету, доктора медичних наук, професора **Деримедвідь Людмили Віталіївни** на дисертаційну роботу **Боцули Ірини Валеріївни** за темою «Експериментальне дослідження нових похідних 1,2,3-триазоло-1,4-бензодіазепінів як потенційних протитривожних засобів», яку подано до спеціалізованої Вченої ради ДФ 64.605.097 при Національному фармацевтичному університеті МОЗ України, що утворена наказом від 30.08.2024 р. № 70-Адм. для розгляду та проведення разового захисту дисертації на здобуття ступеня доктора філософії з галузі знань 22 «Охорона здоров'я» за спеціальністю 226 «Фармація, промислова фармація»

Обґрунтування вибору теми дослідження

Тривожні розлади є найбільш поширеними психічними захворюваннями, що характеризуються високою поширеністю, хронічним перебігом і частою коморбідністю з іншими розладами. Це призвело до того, що Всесвітня організація охорони здоров'я (ВООЗ) поставила їх на 6-те місце та 4-те у високорозвинених країнах серед усіх психічних і соматичних захворювань, які стали причиною розвитку інвалідності. Тривожні розлади становлять 2-3% глобального тягаря хвороб і коштують близько 74 мільярдів євро для 30 європейських країн.

За даними ВООЗ, кожна п'ята людина, яка зазнала впливу війни, ризикує розвинути психічні захворювання. Для України це означає, що близько 8,5 мільйонів людей можуть перебувати під загрозою виникнення психічних розладів через військові дії та пов'язані з ними стресові фактори. З початком бойових дій на території країни чисельність вимушено переміщених осіб значно зростає. З 2014 року цей показник продовжує збільшуватись, що свідчить про постійний вплив конфлікту на населення. Незважаючи на серйозні наслідки для пацієнтів і суспільства, рівень

лікування цих розладів у світі залишається недостатнім, особливо в країнах з низьким рівнем доходу.

Зростання поширеності та значущості психічних розладів, пов'язаних зі стресом, а також різноманітність клінічних форм психоневротичних станів вимагають ефективної фармакокорекції для поліпшення стану пацієнтів. Похідні бензодіазепінів залишаються перспективними засобами завдяки своїй високій фармакологічній ефективності, зокрема анкіолітичній дії, що забезпечує їх провідну роль у клінічній практиці. Новітні дослідження підкреслюють необхідність подальшого вивчення та розробки нових бензодіазепінових сполук, таких як триазолобензодіазепіни, для лікування тривожних розладів та з'ясування їхніх інших біологічних активностей.

Дисертація Боцули Ірини Валеріївни присвячена експериментальному обґрунтуванню можливості застосування похідних 1,2,3-триазоло-1,4-бензодіазепінів в якості потенційних протитривожних засобів.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами, грантами. Дисертація виконана за планом науково-дослідної роботи Національного фармацевтичного університету «Фармакологічне вивчення біологічно активних речовин та лікарських засобів» (номер держреєстрації 0114U000956), в якій дисертантка є співвиконавцем.

Наукова новизна одержаних результатів. Дисертанткою вперше проведено дослідження фармакологічних властивостей нових похідних 1,2,3-триазоло-1,4-бензодіазепінів. Зокрема, в рамках участі в програмі ERASMUS+ на базі Варшавського медичного університету (м. Варшава, Польща) здійснено визначення цитотоксичності, генотоксичності та фоточутливості досліджуваних похідних в умовах *in vitro* та встановлено відсутність їхнього токсичного впливу на проліферацію та метаболічну активність мітохондрій культур клітин та ріст штаму *S. typhimurium*. При проведенні скринінгових досліджень фармакологічної активності нових похідних 1,2,3-триазоло-1,4-бензодіазепінів визначено їхні протитривожні властивості в тестах піднесеного хрестоподібного лабіринту і темно-світлої

камери, антидепресивну активність в тестах плавання за Порсолт та «підвішування за хвіст», відсутність вираженого міорелаксуючого впливу в тестах вертикальної сітки і стрижня, що обертається, та зменшення рівня тривоги та психоемоційного напруження в умовах тесту відкритого поля. Встановлено анагетичну активність похідних МА-252, МА-253 та МА-254 в тестах гарячої пластини та оцтовокислих корчів.

Дисертанткою під час участі в програмі ERASMUS+ на базі Інституту фармації Тартуського університету (м. Тарту, Естонія) вперше сформовано системи доставки ліків (СДЛ) на основі нановолокон, завантажених МА-252, МА-253 та МА-254, за допомогою технології електропрядіння (ЕП) з метою покращення їхньої цільової доставки і фармакодинамічного ефекту та проведено фармакологічні дослідження з залученням гризунів. Визначено покращення анксиолітичної в тестах ПХЛ та ТСК, антидепресивної в тестах плавання за Порсолт та «підвішування за хвіст», анагетичної активностей в тестах гарячої пластини та оцтовокислих корчів в порівнянні зі скринінговими дослідженнями.

При поглибленому дослідженні похідного МА-253 вперше визначено його актопротекторну активність, виявлено потенціювання ним дії етанолу шляхом пролонгування тривалості бічного положення, а також антагонізм до кофеїну та посилення гальмівних аденозинергічних впливів у ЦНС.

При тривалому введенні тваринам похідного МА-253 визначено відсутність розвитку толерантності до його дії: спостерігались значна анксиолітична активність, стимулювальний вплив на локомоторно-дослідницьку поведінку, а також позитивний ефект на фізичну витривалість у щурів обох статей. Безпечність використання МА-253 визначено за умов однократного гострого введення мишам та тривалого застосування протягом 28 днів у щурів: поведінка та зовнішній вигляд тварин були без змін, загальнотрофічні процеси, функції печінки та нирок не відрізнялись від групи контролю.

Вперше в рамках дисертаційної роботи розроблено та оптимізовано склад нових функціоналізованих формул ПЕО-гелю, що поєднують нановолокна, завантажені МА-253, та сухий екстракт кропиви собачої трави, модифікований валіном, для фармацевтичного напівтвердого екструзійного 3D-друку. Продemonстровано придатність надрукованих 3D-зразків для перорального застосування з негайним вивільненням, що може бути використано при створенні персоналізованих лікарських препаратів.

Наукова новизна дисертаційного дослідження підтверджена патентами України на корисну модель №155538 (06.03.2024, Бюл. №10), №156108 (08.05.2024, Бюл. №19).

Теоретичне та практичне значення отриманих результатів. Одержані результати створюють теоретичне підґрунтя для створення лікарських засобів з анксиолітичною та анагетичною активністю на основі похідних 1,2,3-триазоло-1,4-бензодіазепінів, що демонструють широкий спектр фармакологічної дії, відсутність толерантності при застосуванні протягом 28 днів та мають сприятливий профіль безпеки при однократному та тривалому застосуванні.

Фрагменти дисертаційної роботи впроваджені у науково-педагогічний процес кафедр наступних закладів вищої освіти: хімії ПВНЗ «Київський медичний університет» (протокол № 10 від 30 травня 2024 року), клінічної фармакології та внутрішньої медицини Харківського національного медичного університету (протокол № 17 від 31 травня 2024 року), фармакології, клінічної фармакології та фармації Полтавського державного медичного університету (протокол № 20 від 14 червня 2024 року), фармакогнозії з медичною ботанікою Тернопільського національного медичного університету (протокол № 7 від 19 червня 2024 року), загальної і клінічної фармакології та фармакогнозії Одеського національного медичного університету (протокол № 11 від 20 червня 2024 року).

Ступінь обґрунтованості та достовірності наукових положень, висновків та рекомендацій, сформульованих у дисертації. Дослідження в

рамках дисертаційної роботи виконані на сучасному науковому рівні, мають практичне значення та теоретичне обґрунтування. Загальні висновки обґрунтовані та відповідають поставленим завданням, викладені чітко і повністю відображають результати проведених експериментів, а їх достовірність не викликає сумніву. Матеріал, наведений у дисертаційній роботі Боцули І. В., є новим та перспективним для впровадження у практичну фармацію.

Повнота викладення матеріалів дослідження. За матеріалами дисертаційної роботи опубліковано 19 наукових робіт, у тому числі 5 статей у наукових фахових виданнях, з них 2 індексуються в наукометричній базі Scopus, 12 тез доповідей, 2 патенти України на корисну модель. Результати роботи викладено та обговорено на науково-практичних конференціях та семінарах різного рівня.

Аналіз змісту дисертаційної роботи, її завершеності та оформлення. Дисертаційна робота Боцули Ірини Валеріївни структурована за класичним принципом у відповідності до вимог МОН України. Вона викладена на 274 сторінках та складається з анотації українською та англійською мовами, змісту, вступу, огляду літератури, розділу «Матеріали та методи дослідження» та 5 розділів з результатами власних експериментальних досліджень, аналізу та узагальнення одержаних результатів, загальних висновків, списку використаних джерел і 4 додатків. Обсяг основного тексту дисертації складає 168 сторінок друкованого тексту. Робота ілюстрована 38 таблицями та 46 рисунками. Список використаних джерел налічує 273 найменування, із них 45 кирилицею та 228 латиницею.

Робота починається з **анотацій** українською та англійською мовами, у яких стисло представлено результати проведених дисертаційних досліджень.

У **вступі** дисертанткою обґрунтовано актуальність теми дисертації, чітко сформульовані мета, завдання, об'єкт та предмет дослідження. Зазначено зв'язок роботи з науковою темою, наведено наукову новизну та

практичне значення отриманих результатів, охарактеризовано особистий внесок здобувача, апробацію результатів та обсяг роботи.

Огляд літератури, присвячений сучасному стану проблеми тривожних розладів, структуровано на 5 підрозділів, де спираючись на переважно закордонні джерела літератури представлено вичерпну інформацію щодо епідеміології та патогенезу тривожного розладу, його медико-соціальне та економічне значення, розглянуто підходи до терапії, зокрема застосування препаратів бензодіазепінового ряду. Останній підрозділ присвячено обґрунтуванню доцільності застосування похідних триазолобензодіазепінів як потенційних протитривожних засобів.

У розділі «**Матеріали і методи дослідження**» надано характеристику експериментальних тварин, використаних сполук та лікарських препаратів. Наведено загальний дизайн експерименту та детальний опис експериментальних моделей, що використовувались дисертанткою. Усі експериментальні протоколи були схвалені, що засвідчено висновками комісії НФаУ з біоетики (протокол № 4 від 02.10.2020 р. та протокол №9 від 03.05.2023 р.). Під час виконання дисертаційної роботи було використано такі методи дослідження: метод гнучкого рецепторно-орієнтованого докінгу, фармакологічні (анксіолітичної, антидепресивної, аналгетичної активностей, впливу на м'язовий тонус та координацію рухів, взаємодії зі сполуками пригнічувального та стимулювального типу дії), токсикологічні (дослідження цитотоксичності, генотоксичності та підгострої токсичності), технологічні (електропрядіння, 3D-друк), біохімічні, гістологічні, статистичні (розрахунок середньої та її стандартної похибки, міжгрупових відмінностей тощо). Використані методи є адекватними поставленим меті та завданням дисертаційного дослідження та відповідають сучасному науковому рівню.

Результати власних досліджень наведені у 5 експериментальних розділах.

У **третьому** розділі дисертаційної роботи дисертант проводить молекулярний докінг нових похідних 1,2,3-триазоло-1,4-бензодіазепінів

відносно бензодіазепінового сайту ГАМК рецептора, оцінку їхньої безпечності в тестах *in vitro* за показниками цитотоксичності та генотоксичності, скринінгові дослідження обраних похідних за анксіолітичною та антидепресивною активностями, визначає їхній вплив на м'язовий тонус та координацію рухів гризунів, а також поведінкові реакції.

У **четвертому** розділі дисертації представлено результати визначення анагетичної активності в тесті «гарячої пластини» та на моделі «оцтовокислих корчів», а також антигіпоксичних властивостей в умовах гострої нормобаричної гіперкапнічної гіпоксії.

П'ятий розділ дисертаційної роботи присвячений створенню нановолокон, завантажених похідними 1,2,3-триазоло-1,4-бензодіазепінів, за допомогою технології електропрядіння та визначенню їхньої фармакологічної активності в тестах, використаних для скринінгового вивчення.

У **шостому** розділі дисертанткою проведено поглиблене вивчення сполуки-лідера МА-253, а саме: визначення його актопротекторних властивостей, взаємодії зі сполуками пригнічувального та стимулювального типу дії на ЦНС, встановлення можливості розвитку толерантності до фармакологічних ефектів, визначених раніше, протягом тривалого застосування (28 днів) гризунам, а також оцінка безпечності використання в умовах однократного та багаторазового введення.

У **сьомому** розділі дисертаційної роботи продемонстровано можливість напівтвердого екструзійного 3D-друку функціональних ПЕО гелів, завантажених похідним 1,2,3-триазоло-1,4-бензодіазепіну та сухим екстрактом кропиви собачої трави, модифікованим валіном, виконано тест на розчинення друкованих решіток в очищеній воді та здійснено спектрофотометричний аналіз флавоноїдів в них.

Розділ **«Аналіз та узагальнення результатів»** присвячено систематизації отриманих результатів. Авторкою проведено порівняння результатів власних досліджень з даними наукових джерел та наведено

можливі механізми реалізації фармакологічної активності на тлі введення нових похідних 1,2,3-триазоло-1,4-бензодіазепінів.

Загальні **висновки** дисертаційної роботи відповідають поставленим завданням та узагальнюють результати експериментів.

Список використаних джерел наведено у порядку появи посилань у тексті, оформлено відповідно до чинних вимог.

У **додатках** представлені список публікацій здобувача та апробація роботи, повідомлення про встановлення дати подання двох заявок на винахід, акти впровадження результатів дослідження в науково-педагогічний процес кафедр закладів вищої освіти України.

У рецензованій дисертаційній роботі не виявлено ознак академічного плагіату, фальсифікації чи інших порушень, які можуть поставити під сумнів самостійний характер виконання авторкою представленого наукового дослідження. Тематика дослідження є актуальною для сучасної фармацевтичної науки. Текст викладено українською мовою із дотриманням наукового стилю.

Проте при загальній позитивній оцінці дисертаційної роботи слід відзначити деякі зауваження і побажання:

1. У огляді літератури не всюди є посилання на літературні джерела.
2. У розділі «Матеріали та методи досліджень» не потрібна таке детальне описання рутинних методик з досліджень: методу «піднесеного хрестоподібного лабіринту», тесту «темно-світлої камери», тесту примусового плавання за Порсолт, адже вони загальновідомі.
3. У висновку до розділу 3, №5 «При відтворенні тестів вертикальної сітки та «стержня, що обертається» не виявлено негативного впливу похідних 1,2,3-триазоло-1,4-бензодіазепінів на координацію рухів, встановлено легкий міорелаксантийний ефект у деяких із них», доцільно не писати «деяких із них», а конкретизувати яких саме.
4. У розділі «Аналіз та узагальнення результатів» написано «Вплив нових похідних на м'язовий тонус та координацію рухів досліджено за допомогою

тесту вертикальної сітки та ротарод-тесту та встановлено відсутність їхнього негативного впливу, продемонстровано тенденцію до прояву слабких міорелаксантих властивостей зі збільшенням дози, на відміну від класичних бензодіазепінів». Це не зовсім коректно, адже у класичних бензодіазепінів зі збільшенням дози з'являються або є наявними міорелаксантих властивості. Також гідазепам є «денним» анксиолітиком і ви не досліджували його міорелаксантих властивості на тлі збільшення доз. Для порівняння міорелаксантих властивостей доцільно було б обрати діазепам.

5. Доцільно було б зробити узагальнюючу таблицю з вказанням наявності чи відсутності певних фармакологічних властивостей серед похідних 1,2,3-триазоло-1,4-бензодіазепінів, які було досліджено.

6. В роботі є деякі граматичні й стилістичні помилки; є незначні зауваження до вирівнювання тексту тощо.

Однак наведені зауваження не є суттєвими та не зменшують позитивне враження від дисертаційної роботи, яка є закінченим дослідженням з достатньою науковою новизною та практичним значенням одержаних результатів.

Для проведення наукової дискусії вважаю за доцільне поставити такі запитання:

1. Чим ви пояснюєте певні розбіжності фармакологічних властивостей СДЛ на основі нановолокон, завантажених похідними 1,2,3-триазоло-1,4-бензодіазепінів, які ви досліджували?

2. Чому при дослідженні фармакологічної активності похідного МА-253 за умов тривалого введення було обрано саме срок 28 днів?.

3. Чому до ПЕО-гелів, завантажених нановолокнами з похідним 1,2,3-триазоло-1,4-бензодіазепіну МА-253 було додано модифікований валіном сухий екстракт трави кропиви собачої? Чи не доцільніше було б обрати звіробій, який має доведені антидепресивні властивості, адже в роботі ви вказуєте на те, що похідні МА-253, МА-254 і МА-255 у дозах 1 мг/кг демонструють наявність вираженої антидепресивної активності? І чому ви не

провели подальші дослідження для порівняння фармакологічної дії похідних 1,2,3-триазоло-1,4-бензодіазепінів - МА-253, МА-254 і МА-255 з модифікованим валіном сухим екстрактом трави кропиви собачої та новим ПЕО гелем, який поєднує нановолокна 1,2,3-триазоло-1,4-бензодіазепіну та модифікований валіном сухий екстракт кропиви собачої трави?

4. Які на ваш погляд, переваги та недоліки препаратів отриманих за допомогою 3D-друку?

Висновок про відповідність дисертації обраній спеціальності, профілю спеціалізованої вченої ради та вимогам МОН України.

З усього вищевикладеного можна зробити висновок про те, що дисертаційна робота Боцули Ірини Валеріївни за темою «Експериментальне дослідження нових похідних 1,2,3-триазоло-1,4-бензодіазепінів як потенційних протитривожних засобів» є закінченою науковою працею. За актуальністю, науковою новизною, обсягом проведених досліджень, ступенем обґрунтованості наукових положень та рівнем впровадження одержаних результатів рецензована дисертаційна робота відповідає вимогам Порядку присудження ступеня доктора філософії та скасування рішення разової спеціалізованої вченої ради закладу вищої освіти, наукової установи про присудження ступеня доктора філософії, затвердженого постановою КМУ від 12 січня 2022 року № 44, а її автор, Боцула Ірина Валеріївна, заслуговує на присудження наукового ступеня доктора філософії з галузі знань 22 «Охорона здоров'я» за спеціальністю 226 «Фармація, промислова фармація».

Рецензент:

професор закладу вищої освіти

кафедри фармакології та клінічної фармації

Національного фармацевтичного університету,

доктор медичних наук, професор

Людмила ДЕРИМЕДВІДЬ